

donor抗原門脈内反復投与法による免疫寛容誘導の 試み

著者	佐藤 耕一郎
号	2757
発行年	1995
URL	http://hdl.handle.net/10097/21189

氏 名（本籍） 佐 藤 耕 一 郎

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 7 5 7 号

学位授与年月日 平 成 7 年 3 月 8 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭 和 59 年 3 月 21 日
秋田大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 donor 抗原門脈内反復投与法による免疫寛容誘導
の試み

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 森 昌 造 教授 松 野 正 紀

教授 藤 村 重 文

論 文 内 容 要 旨

【目 的】

臓器移植における大きな問題点として免疫抑制剤投与による感染症や合併症の発生があげられ、それらを解決する手段として、免疫抑制剤を使用しない、移植臓器に特異的な免疫抑制療法が最終理想と考えられる。今回我々は抗原が経口または経門脈的に投与された場合、宿主はその抗原に対し免疫不応答になるという現象を応用し、移植臓器に特異的な免疫抑制誘導ができないかを検討した。特に、この効果における免疫抑制状態が短期間しか持続しないという欠点を補うため、donor 抗原の門脈からの反復投与を行い、この一時的な免疫抑制効果の延長が可能であるかを検討した。

【方 法】

donor に DA ラット (RT1^a), recipient に Wistar Shionogi ラット (RT1^k), 3rd party に BN ラット (RT1^a) を用い、以下の実験に使用した。

1) 免疫抑制をより効果的に導入できる抗原投与経路を検討するため、donor 抗原を recipient の静脈、門脈、経口、パイエル板より投与し、1週間後の免疫抑制状態をリンパ球混合培養反応 (MLR) にて比較し、どの経路からの投与が、最も免疫抑制が強いかを検討した。2) 門脈からの投与 donor 脾細胞数をどのくらいにすれば、免疫抑制をより効果的に誘導できるのかの検討を行った。3) 異所性心移植の系を用い、門脈からの donor 抗原の投与回数を 0 - 3 回として群を作成し、各群間の移植心の生着日数を比較した。また、3rd party においても同様の効果が認められるかを検討した。4) donor 抗原の投与回数を 0, 1, 2 回とした各群における移植心の拒絶反応の状態を組織学的に検討した。5) donor 抗原門脈内反復投与を 1 - 3 回行い、donor 脾細胞を stimulator, recipient 脾細胞を responder とした MLR にて、免疫抑制が持続する期間を検討した。6) MLR の低下が donor 細胞の混入によるためか、または純粋に responder cell の反応を表しているのかを検討するために、5-carboxyfluorescein diacetate succinimidylester (CFSE) を用いて蛍光標識した donor 脾細胞の、recipient 脾臓への集積率を 1, 6 時間, 1, 2, 7 日と経時的に検討した。7) donor 抗原門脈内投与による細胞性免疫を抑制する液性因子の存在とその抑制効果の経時的変化を、無処置のリンパ球混合培養に液性因子を添加することにより検討した。なお、全ての MLR における免疫抑制状態は、% suppression (% S) = {1-(experimental cpm-negative control cpm)/(positive control cpm-negative control cpm)} で表し、比較検討した。

【結 果】

1) 門脈より donor 抗原を投与した場合が% S が最も高く、免疫抑制が最も強いと考えられ、donor 抗原の最適投与経路は、門脈ルートと考えられた。2) 門脈から donor 抗原を 2×10^7 個以上投与することにより、著明な免疫抑制状態を作成できた。3) 門脈より donor 抗原を 1 回投与した群 (1 回門注群) の移植心生着日数は、 16.3 ± 3.2 日 (平均 \pm S.D.) であり、無処置群の 8.2 ± 2.4 日と比較して、有意に生着日数が延長していた。また、2 回門注群では 28.8 ± 11.8 日、3 回門注群では 32.3 ± 7.4 日と門脈より donor 抗原投与の回数を増やすにしたがい生着延長効果が認められた。しかし、この効果は、3rd party では認められず、この効果は、抗原特異的と考えられた。4) donor 抗原の門注により組織学的拒絶反応の程度は軽減され、投与回数を増やすに従ってその軽減の期間は延長していた。5) donor 抗原の初回投与後から約 3 週まで% S は高く (平均% S=70)、免疫抑制状態が続くと考えられたが、以後漸減し 5 週目以降は認められなくなった (平均% S=2.5)。しかし、この効果は 3rd party では認められず、抗原特異的な効果と考えられた。また、2 回門注した群では免疫抑制期間は 2 倍に (初回門注より 6 週目で% S が 35%) に、3 回門注した群では 3 倍に (初回門注より 9 週目で% S が 51%) 延長されていた。6) 投与された donor 脾細胞の recipient 脾細胞への混入はほとんど認められず、検討した MLR は recipient の細胞性免疫の状態を十分に表すものと考えられた。7) 門注後、液性因子は無処置の MLR を抑制し、以後この効果は 12 週までは継続し、再門注後も免疫抑制の状態に変化はなかった。

【結 論】

免疫抑制効果を誘導する抗原投与経路としては門脈からのルートが最も免疫抑制効果を強く、またその投与方法として門脈内反復投与が有用と考えられ、donor 抗原の反復投与を繰り返していくことにより半永久的で移植臓器特異的な免疫寛容を誘導することができる可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

近年の免疫抑制剤の開発は拒絶反応の克服を容易なものとし、移植成績の向上をもたらした。しかしその反面、薬剤の持つ人体への強力な非特異的免疫抑制力は、感染症をはじめとする合併症の誘因となるとともに、薬剤そのものの副作用に悩まされる者も多く、臓器移植の大きな問題となっている。これらの問題を解決する手段として、免疫機構の解明に基づいた臓器特異的な免疫抑制療法の開発が望まれ、免疫抑制剤を使用しない移植が究極の目標とされてきたが、未だ実現していない。本研究では経口または門脈系に抗原を投与すると、一時的に宿主が抗原に対して不応答になるという現象に着目し、この機序を詳細に解明することで、臓器特異的な免疫抑制療法への応用が可能かの検討を行っている。

まず近交系ラットを用い抗原の投与ルートを経口、パイエル板、静脈、門脈に分け検討し、それぞれについてリンパ球混合培養試験における抑制の程度より、至適投与ルートとして門脈の有用性を明らかにしている。またその際の投与抗原量の検討で 2×10^7 個以上の投与が必要なことを明らかにしている。続いて最も効果的であった経門脈的投与における抑制の経時的観察の結果から、抑制効果は3週間程度で消失する事を見だし、更にこの抑制効果が短期間しか持続しないという欠点を克服する手段として、ドナー抗原を門脈内へ反復投与する新しい方法を試みている。その結果、1回の投与によってひきおこされた抑制効果の減弱する時期に抗原の投与を繰り返すと、免疫抑制の期間を延長出来ることを、リンパ球混合培養試験のみならず、ラットの異所性心移植の系でも証明している。そしてこの結果は投与したドナー抗原に特異的であり、3rd party の心移植は延長しないことも明らかにしている。組織学的検討においても、反復投与によって生着延長した移植心へのリンパ球の浸潤は少なく、拒絶反応の程度は軽い事を、抗原1回投与群との比較において明らかにしている。更にこれらの免疫抑制をもたらす背景として、細胞性免疫のみならず液性免疫も関与していることを、液性免疫の経時的解析から確認している。以上より、門脈への抗原の反復投与を続けていくことで、免疫抑制剤を用いずとも抗原特異的免疫抑制状態を継続出来る可能性があるとの結論を導いている。

本研究で得られた成果は詳細な解析結果に基づくものであり、抗原特異的抑制という臓器移植の臨床への新しい展望をもたらすと共に、経口や門脈を介しての免疫系の成立ち、ひいては免疫系における腸肝関連の機構解明にも糸口を与えるもので十分に学位に値する。